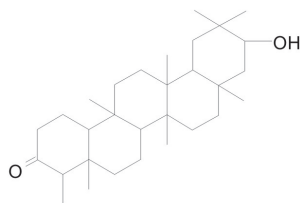


Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Triterpenoid dari Kulit Batang Kayu Api-api Betina (*Avicennia Marina* Neesh)

SETIAWATI YUSUF

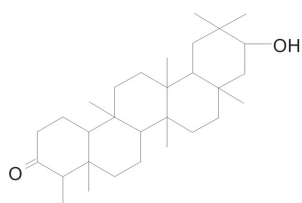
Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

INTISARI: Pemisahan senyawa triterpenoid dari kulit batang tumbuhan Kayu Api-api Betina (*Avicennia marina* Neesh) telah berhasil dilakukan dengan cara sokletasi. menggunakan dua pelarut berturut-turut yang berbeda tingkat kepolarannya, yaitu *n*-heksan dan metanol. Analisa KLT hasil ekstraksi residu ekstrak pekat *n*-heksan dengan pelarut metanol menunjukkan satu noda ($R_f = 0,8$) yang bersifat polar. Fraksi metanol menghasilkan kristal putih ($T_f = 265 - 266^\circ\text{C}$) dan uji kualitatif menunjukkan adanya kandungan senyawa triterpenoid. Data spektrometri adalah sebagai berikut: UV (kloroform), 235 nm dan 283 nm. IR (KBr) cm^{-1} : 3589,1; 3448,1; 2931,0; 2848,7; 2719,4; 2613,7; 1684,0; 1642,8; 1376,5; 1232,6; 1105,0; 1038,4; 883,4. H-NMR (CDCl_3) ppm: 0,381; 0,742; 1,113; 1,504; 9,0 - 10,5. Dan MS (Kloroform) m/e : 411, 273, 205, 137, 109, dan 69. Berdasarkan data spektrometri di atas menunjukkan bahwa struktur senyawa triterpenoid adalah:



KATA KUNCI: kayu api-api betina (*Avicennia marina* Neesh), polar, triterpenoid

ABSTRACT: Isolation of the triterpenoid compound from skin of trunk Kayu Api-api Betina (*Avicennia marina* Neesh) have been separated by soxhletation uses two soluts successively which different polarity, that is *n*-hexane and methanol. Analysis residue of extracts *n*-hexane with methanol which metode Thin Layer Chromatografi shows one stain ($R_f = 0,8$) that have the character of polar. Methanol Fraction produces a white crystal ($T_f = 265 - 266^\circ\text{C}$) and test qualitative showed existence of compound content triterpenoid compound. The data of spektrometry were: UV (kloroform), 235 nm dan 283 nm. IR (KBr) cm^{-1} : 3589,1; 3448,1; 2931,0; 2848,7; 2719,4; 2613,7; 1684,0; 1642,8; 1376,5; 1232,6; 1105,0; 1038,4; 883,4. H-NMR (CDCl_3) ppm: 0,381; 0,742; 1,113; 1,504; 9,0 - 10,5. and MS (Kloroform) m/e : 411, 273, 205, 137, 109, and 69. Based on data spectrometry above, structure of triterpenoid pentacyclic was:



KEYWORDS: kayu api-api betina (*Avicennia marina* Neesh), polar, triterpenoide

Mei 2010

1 PENDAHULUAN

Tumbuhan *Avicennia marina* Neesh ini sudah lama dikenal oleh penduduk di Indonesia, mereka mengenalnya dengan nama yang berbeda-beda tergantung pada daerah masing-masing. Di pulau Jawa tumbuhan ini dikenal dengan nama Pohon api-

api, di pulau Bali dikenal dengan nama Pohon Prapat dan di Sumatera Selatan dikenal dengan nama Kayu Api-api betina.

Tumbuhan kayu api-api betina (*Avicennia marina* Neesh) dapat digunakan untuk kayu bakar, perabot rumah tangga, mengasapi ikan, juga dapat digunakan untuk membuat lumpang padi. Kulit batangnya da-

pat dimanfaatkan sebagai obat-obatan tradisional misalnya obat sakit gigi, dan menurut Burkill^[1] kulit batangnya mempunyai khasiat terhadap penurunan produksi hormon seksual (afrodisiaka) dan juga sering digunakan sebagai anti fertilitas. Tumbuhan Kayu api-api betina (*Avicennia marina* Neesh) sudah sering dimanfaatkan para nelayan di daerah pesisir pantai di pulau Jawa dan Bali untuk kebutuhan sehari-hari. Kayu nya yang besar dimanfaatkan untuk kayu bakar dan untuk mengasapi ikan karena baunya yang khas dan sedap. Kulit batang tumbuhan *Avicennia marina* Neesh di Sumatera Selatan yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan tradisional Buahnya juga dapat dimakan dengan merebusnya terlebih dahulu, kemudian direndam semalam lalu dibersihkan dari kotorannya. Daunnya dapat digunakan sebagai makanan ternak dan kulit batang dari tumbuhan api-api betina ini umumnya sering dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan tradisional, terutama sebagai obat anti fertilitas.

Penelitian terhadap khasiat dan kandungan senyawa aktif dari tumbuhan bakau yang pernah dilakukan adalah tentang kandungan tanin dari tumbuhan jenis *Rhizophora* sp. Penelitian terhadap pengaruh dari kandungan aktif dalam kayu Api-api telah dilakukan dan diuji cobakan terhadap hewan percobaan yaitu mencit dan tikus. Tim peneliti Udayana telah melaporkan bahwa kandungan aktif kulit batang *Avicennia marina* dapat memperlambat perkembangan proses kesuburan pada mencit. G.N. Astika^[2] melaporkan bahwa pemberian damar api-api pada tikus percobaan dapat menyebabkan penurunan jumlah sel telur pada saat proses ovulasi (pembentukan sel telur).

Spesies-spesies *Avicennia* sp. yang telah diidentifikasi penyebarannya adalah *Avicennia alba* Bl., *Avicennia officinalis* L., *Avicennia nitida*, *Avicennia marina* (Forsk) Vierh., *Avicennia marina* Neesh. Laporan yang mengungkapkan tentang struktur molekul kandungan senyawa aktif spesies-spesies tersebut di atas belum ada, tetapi berdasarkan laporan penelitian G.N. Astika^[2] menunjukkan bahwa kandungan senyawa aktif tumbuhan *Avicennia marina* dapat mempengaruhi perkembangan hormon seksual pada mencit dan tikus.

Pada tahun 1969 Assemien melakukan penelitian tentang Jenis *Rhizophora* sp. Disekitar muara sungai Senegal dekat kota Bogue, wilayah Afrika Barat. Pada tahun 1971 mereka menyelidiki tentang penyebaran evolusi dari tumbuhan *Avicennia nitida*. Penyelidikan studi tentang evolusi tumbuhan bakau di India, benua Asia dilakukan oleh Caratini, pada 1973. tumbuhan yang dapat diidentifikasikan adalah tumbuhan dengan jenis *Rhizophoraceae*, juga *Avicennia officinalis* L, dan *Avicennia marina* Forsk Vierh.

Berdasarkan uji pendahuluan terhadap kandungan senyawa aktif dalam kulit batang Kayu Api-api betina

(*Avicennia marina* Neesh) dengan pereaksi Liebermann Burchard menunjukkan adanya kandungan senyawa triterpenoid. Oleh sebab itu maka perlu diadakan penelitian tentang kandungan aktif serta penentuan struktur molekul senyawa triterpenoid dalam kulit batang kayu Api-api betina.

2 BAHAN DAN ALAT

2.1 Bahan

Bahan dan tumbuhan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah: Kulit batang *Avicennia marina* Neesh, *n*-Heksan p.a. dan *n*-Heksan teknis, Kalium Iodida dan Iodium, Asam Sulfat Pekat dan Asam Sulfat 2*N*, Asam Asetat Anhidrid, Kloroform p.a. dan Kloroform Teknis, α -Naftol, Metanol 96% dan Metanol Teknis, Karbon aktif dan Antimon klorida, *Aquadest* dan Pelat KLT

2.2 Peralatan

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian adalah: Satu set peralatan soklet dan Mantel, Corong pemisah 250 ml dan 100 ml, Corong Buchner dan corong biasa, Satu set peralatan rotary evaporator, Gelas piala dan Erlenmeyer, Pengaduk kaca, Gelas ukur dan Tabung reaksi, Penangas air, Oven, Desikator, Pipet kapiler, Penjepit kayu, Chamber dan Hair dryer, Lampu UV, Spektrofotometer UV Shimadzu, Spektrofotometer IR Perkin Elmer seri 1600, Spektrofotometer GC-MS Shimadzu QP-5000, dan Spektrofotometer NMR Hitachi R-1500

2.3 Pereaksi

Pereaksi Mayer, Dragendroff, Wagner, Molisch, dan Liebermann-Burchard.

3 METODOLOGI

Tahapan penelitian:

Tahap 1. Penelitian dimulai dengan pengambilan sampel batang *Avicennia marina* Neesh di Muara Sungai Musi-Delta Upang Sungsang, Provinsi Sumatera Selatan. Kulit batang *Avicennia marina* Neesh sebelum digiling halus diangin-anginkan terlebih dahulu dan kemudian disimpan dalam ruangan yang memiliki suhu kamar agar berat yang didapatkan adalah berat yang konstan. Terhadap sampel dilakukan uji pendahuluan^[3] adanya kandungan alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, Dragendroff dan Wagner. Jika uji positif akan terbentuk endapan yang menunjukkan bahwa sampel mengandung alkaloid, dimana dengan pereaksi Mayer memberikan endapan putih, pereaksi dragendroff memberikan endapan oranye, sedangkan

pereaksi Wagner memberikan endapan berwarna coklat. Dan sebagai pembanding digunakan larutan Brucine dalam HCl 2N.

(+) Untuk Brusin 0,01%, artinya kadar alkaloidnya sangat rendah

(++) Untuk Brusin 0,025%, artinya kadar alkaloid rendah

(+++) Untuk Brusin 0,055%, artinya kadar alkaloid tinggi

(++++) Untuk Brusin 0,1%, artinya kadar alkaloid sangat tinggi

Tahap 2. Selanjutnya pengujian adanya steroid dan triterpenoid, dimana sebanyak 10 gr sampel yang telah dihaluskan ditambahkan dengan petroleum eter secukupnya lalu ditempatkan pada palat tetes, kemudian ditambahkan asam asetat anhidrid sampai terendam semua, dibiarkan sampai 15 menit. Enam tetes larutan tersebut dipindahkan ke dalam pelat tetes yang lain, pelan-pelan ditambahkan tetes demi tetes asam sulfat pekat, perubahan warna yang terjadi diamati. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan warna merah jingga atau ungu, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehijauan. Sebagai pembanding untuk menyatakan kadar triterpenoid, digunakan biji Mahoni (*Swietenia macrophylla*) yang telah diketahui mengandung triterpenid 0,05% diberi ukuran (++++) sedangkan untuk kadar steroid digunakan 1 mg kolesterol (+++).

Pengujian adanya glikosida dilakukan dengan mengambil sebanyak 10 gr sampel yang dihaluskan dibungkus dengan kertas saring, diekstrak dalam labu soklet dengan pelarut *n*-heksan (69°C). Ekstraksi dihentikan sampai ampas sudah tidak aktif lagi dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Kemudian ampas atau residu disokletasi lagi dengan menggunakan pelarut Metanol. Filtrat metanol ini diuji dengan pereaksi Molisch dan dikocok perlahan-lahan. Selanjutnya melalui dinding tabung yang dimiringkan ditambah tetes demi tetes asam sulfat pekat. Adanya glikosida ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna ungu

Tahap 3. Isolasi dan pemurnian Triterpenoid yang diperoleh dilakukan dengan mengambil sebanyak 300 gr sampel yang telah dihaluskan dan dibungkus dengan kertas saring, disokletasi dengan pelarut *n*-heksan. Residu yang dari sokletasi tersebut disoklet kembali dengan menggunakan metanol. Ekstrak metanol yang didapat dipekatkan dengan menggunakan pompa vakum Rotary Evaporator agar pelarutnya terpisah dari ekstrak, selanjutnya dilakukan uji fitokimia.

Hasil ekstrak dilarutkan dengan metanol p.a. kemudian dimasukkan kedalam corong pemisah dan ditambah dengan pelarut *n*-heksan. Kemudian campuran tersebut dikocok dengan teratur selama lebih kurang

15 menit, kemudian didiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah (lapisan Metanol) dipisahkan dari lapisan atas (lapisan *n*-Heksan). Jumlah komponen kimia di dalam ekstrak hasil pemisahan dari pelarut heksan tersebut dapat diketahui dengan uji kromatografi lapis tipis (TLT), dan selanjutnya ekstrak tersebut dilakukan rekristalisasi.

Tahap 4. Terhadap kristal dilakukan Kromatografi Lapis Tipis, ditentukan titik lelehnya, ditentukan golongan dan uji kelarutan dan terakhir dianalisis dengan alat Spektrofotometer Ultra Violet (UV), Spektrofotometer Infra Merah (IR) dengan KBr, Spektrofotometer massa (MS)-GC, dan atau dengan spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (RMI).

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan triterpenoid pada kulit batang *Avicennia marina* Neesh, bersifat polar dalam bentuk kristal jarum berwarna putih yang beratnya 0,98 gram, titik leleh 265 - 266 Co, uji FeCl₃ memberikan warna hijau tua. Uji kromatografi lapis tipis terhadap kristal jarum hasil isolasi dengan berbagai variasi eluen dengan penampakan noda larutan Antimon klorida (SbCl₃) berwarna merah dengan *R_f* 0,8.

Pengujian kristal dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan adanya triterpenoid dengan terbentuknya senyawa warna merah jingga. Spektra UV terhadap kristal yang dihasilkan tersebut menunjukkan pita serapan pada daerah panjang gelombang 200-400 nm. Transisi yang terjadi adalah transisi *n* - *n** dan diduga senyawa tersebut mengandung gugus karbonil yang tak terkonjugasi.

Analisa kristal jarum hasil isolasi menggunakan Spektrofotometer Infra Merah dengan lempeng KBr menunjukkan serapan pada daerah bilangan gelombang (cm⁻¹) 3589,1 (l); 3448,1 (k); 2931,0 (k); 2848,7 (l); 2719,4 (l); 2613,7 (s); 1684,0 (k); 1642,8 (l); 1454,8 (k); 1376,5 (k); 1232,6 (k); 1105,0 (s); 1038,4 (k); 883,4 (k). Berdasarkan data yang muncul di atas dapat dilihat bahwa serapan ulur C-H berada pada daerah bilangan gelombang 2931,0 cm⁻¹; 2848,7 cm⁻¹; 2719,4 cm⁻¹ dan 2613,7 cm⁻¹. Bilangan gelombang 1684,0 cm⁻¹ (k) dan 1642,8 cm⁻¹ (l) menunjukkan adanya gugus karbonil (C=O) yang pita serapannya diperkuat oleh pita serapan pada bilangan gelombang 1232,6 cm⁻¹ (k) untuk ulur C-C-C. Bilangan gelombang 1105,0 cm⁻¹ (s) yang karakteristik untuk tekuk keton, C-C(=O)-C. Pita serapan pada bilangan gelombang 1376,5 cm⁻¹ menunjukkan serapan oleh gugus gemdimetil, sedangkan pada 1454,8 cm⁻¹ menunjukkan adanya serapan -CH₂-lingkar.

Pita serapan pada daerah panjang gelombang 3448,1 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus

O—H yang merupakan pita serapan untuk gugus alkohol. Pita serapan tersebut diperkuat oleh serapan pada daerah bilangan gelombang $1105,0\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan serapan —C—O— . Jika O—H yang dimaksud adalah gugus karboksilat, maka pita serapan gugus O—H pada daerah panjang gelombang $3300\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$ harus kuat dan sangat lebar yang berpusat di daerah panjang gelombang dekat 3000 cm^{-1} . Gugus karboksilat juga harus diperkuat dengan pita serapan ulur C—O pada daerah di dekat $1315\text{--}1280\text{ cm}^{-1}$ dan vibrasi tekuk C—O—H pada daerah bilangan gelombang dekat $1440\text{--}1395\text{ cm}^{-1}$. Analisa sementara dari hasil spektra Infra merah diduga bahwa senyawa triterpenoid yang dimaksud adalah senyawa triterpenoid yang memiliki kerangka keton dengan gugus pengikat alkohol.

Analisa kristal jarum dengan menggunakan spektrofotometer RMI (Resonansi Magnetik Inti) dalam pelarut CDCl₃, menunjukkan puncak-puncak serapan karakteristik pada pergeseran kimia δ (ppm) sebagai berikut: $0,381\text{ ppm}$ menunjukkan puncak serapan gugus metil, —CH— , $0,742\text{ ppm}$ menunjukkan puncak serapan gugus metil, —CH_3 , $1,113\text{ ppm}$ menunjukkan puncak serapan gugus metil, —CH_3 dan gugus metilen, $\text{—CH}_2\text{—}$, $1,504\text{ ppm}$ menunjukkan puncak serapan gugus metilen, $\text{—CH}_2\text{—}$, $9\text{--}10\text{ ppm}$ menunjukkan puncak serapan gugus aldehid, —CHO . Puncak serapan daerah pergeseran $9\text{--}10\text{ ppm}$ terdiri dari 5 puncak dengan intensitas kecil, hal ini disebabkan karena terjadinya pemecahan antara gugus metil dengan metilen. Jumlah atom hidrogen keseluruhan yang terdapat dalam molekul dapat dihitung dengan menggunakan metode integrasi sinyal-sinyal resonansi spektra RMP. Sinyal dengan $\delta\ 0,381\text{ ppm}$ karakteristik untuk —CH— , $\delta\ 0,742\text{ ppm}$ karakteristik untuk $\text{—CH}_3\text{—}$, $\delta\ 1,113\text{ ppm}$ diduga —CH_3 atau $\text{—CH}_2\text{—}$, $\delta\ 1,504\text{ ppm}$ diduga $\text{—CH}_2\text{—}$, dan $\delta\ 9,0\text{--}10,5\text{ ppm}$ karakteristik untuk —CHO— .

Analisa berat molekul dilakukan dengan menggunakan rangkaian alat GC-MS, hasil spektranya menunjukkan adanya puncak dengan 2 waktu retensi, yaitu waktu retensi $24,317\text{ menit}$ dan $25,667\text{ menit}$, dan dari tampilan spektra dapat terlihat bahwa kedua spektra tersebut sangat identik satu sama lain. Puncak spektra dapat dilihat pada lampiran 8 dan 9. Spektra masa dengan waktu retensi $25,667\text{ menit}$ menunjukkan adanya puncak-puncak ion molekul yang karakteristik, yaitu puncak pada $m/e\ 96, 109, 137, 205, 273, 341$, dan $m/e\ 411$, puncak spektra $m/e\ 69$ dengan rumus molekul C_5H_9 merupakan puncak dasar ion molekul.

Spektra puncak ion molekul pada spektrum tidak muncul, hal ini dapat disebabkan karena pengaruh kestabilan ion molekul dan juga pengaruh banyaknya acabang pada molekul yang dideteksi. Ion molekul yang paling stabil adalah gugus-gugus dari sistem aromatik murni. Puncak ion molekul gugus alkohol meru-

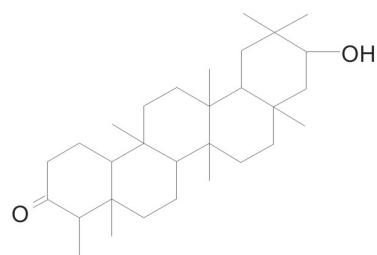
pakan gugus yang tidak stabil, oleh sebab itu puncak ion molekul gugus alkohol sering tidak muncul. Demikian juga halnya dengan gugus karbonil seperti keton yang merupakan gugus yang kurang stabil.

Puncak spektra $m/e\ 137$ dan $m/e\ 273$ merupakan hasil pemecahan dari puncak $[M - 29] + m/e\ 411$. Puncak $m/e\ 411$ menyatakan bahwa puncak ion molekul kehilangan gugus CH_2CH_3 . berdasarkan pola pemecahan pola puncak-puncak karakteristik tersebut dapat diramalkan bahwa puncak ion molekul berada pada $m/e\ 440$ sehingga dapat diambil kesimpulan, berat molekul senyawa yang dideteksi adalah 440 .

Banyaknya atom karbon senyawa dengan berat molekul 440 dapat dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan jumlah atom karbon^[4] adalah 30 . Rumus indek kekurangan hidrogen (F) adalah 7 , berdasarkan perhitungan diatas disimpulkan bahwa senyawa yang dideteksi adalah senyawa triterpenoid yang mengandung 5 kerangka cincin dan 2 ikatan rangkap, yaitu dari gugus karbonil (C=O).

5 SIMPULAN DAN SARAN

Ditinjau dari data analisis yang ada dapat disimpulkan bahwa senyawa yang dideteksi ini adalah senyawa triterpenoid pentasiklik turunan keton yang termasuk golongan Friedelin. Senyawa ini memiliki gugus hidroksi pada atom C_{21} dengan titik lelehnya $265^\circ\text{--}266^\circ\text{C}$, dan dari berat molekul 440 , rumus molekul yang diduga adalah $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa hasil analisis secara keseluruhan menyatakan bahwa senyawa triterpenoid yang diidentifikasi adalah 21-Hidroksi-4(23)-Friedelin-3-Oxo dengan struktur molekul seperti pada gambar berikut



Adapun saran yang dapat diungkapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut agar dapat dilakukan penelitian lanjut terhadap kandungan alkaloid pada tumbuhan *Avicennia marina* Neesh kayu api-api betina dapat dilakukan suatu uji kandungan aktif yang berkhasiat obat dari tumbuhan bakau pada umumnya secara bio essay.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Burkill, I.H., 1935, *A Dictionary of the Economic Product of The Malaya Peninsula*, Mill Bank London

- [2] Astika, G.N., 1991, *Pengaruh Pemberian Damar Api-api terhadap Kadar Estradiol dan Progesteron Serum Tikus*, Lembaga Peneliti Unair Surabaya
- [3] Fransworth, N.R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *J.of Pharm.Sci.*, 55.3.262
- [4] Creswell, C.J., O.A. Runquist, and M.M. Campbell, 1982, *Analisa Spektrum Senyawa Organik*, Penerbit ITB, Bandung